

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：34533

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23784

研究課題名(和文)メルケル細胞-神経複合体の機能的特性の研究-痛みや痒みとの関連について

研究課題名(英文)Involvement of merkel cells in pain or itch sensation

研究代表者

神田 浩里(Hirosato, Kanda)

兵庫医療大学・薬学部・助教

研究者番号：80842088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：メルケル細胞は体外からの触刺激に反応する触覚のセンサーとしての役割を担っている。本研究課題では、メルケル細胞と疼痛や痒み受容への関連性に着目し研究を行った。皮膚のメルケル細胞はA線維とメルケル終盤を構成するが、毛包部におけるメルケル細胞はPeripherinとNF200を共発現する神経線維とメルケル終盤を構成していた。CFAIによる炎症モデルの皮膚におけるメルケル細胞と神経終末の構造的変化についての解析を行った。毛包部のメルケル細胞の局在部位ではアセチルコリンの発現を認めた。本研究により触センサーとしてのメルケル細胞の機能に併せて痒みの誘発のトリガーとしてのメルケル細胞の役割が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでメルケル細胞の生理的意義として、体外からの触刺激に対する活性化機構や神経伝達機構が明らかとなってきた。しかしながら、メルケル細胞やメルケル終盤の病態における機能的・構造的変化について不明な点が多い。本研究の位置づけとして、メルケル細胞と疼痛・痒みとの関連性を新たに示唆するものであり、今後メルケル細胞をターゲットとした新規鎮痛・搔痒緩和薬の開発等に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Merkel cell is distributed in the skin and act as an mechano-sensor for tactile stimuli. It is known that merkel cell composes the synapse with sensory nerve endings and transmit a tactile information by releasing neurotransmitters. Here, we examined the functional classification of sensory nerve endings which are terminated at Merkel cells. We further examined whether Merkel cells are involved in generation of pain or itch sensation. We found that the Merkel cells which are located in the skin specifically contacted with A fiber. On the other hand, the Merkel cells in the whisker hair follicle contacted with peripherin and neurofilament H-double positive nerve fiber. Although acetylcholine is known as a neurotransmitter in CNS, it mediates itch sensation in the peripheral tissues. We found that Merkel expressing region of whisker hair follicle highly expressed ChaT mRNA. These results suggest the possibility that Merkel cell might be involved in itch sensation.

研究分野：神経科学

キーワード：メルケル細胞 痒み

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 皮膚における触覚の受容において、メルケル細胞は感覚神経線維とメルケル終末を構成し、外界からの直接的な機械刺激に対して Mechano receptor である Piezo2 チャネルを介したメルケル細胞独自の活性化機構を有することが知られている (Ikeda et al., Cell.2014)。

(2) メルケル細胞と Aβ 線維の神経終末がメルケル複合体を構成する。メルケル細胞は神経伝達物質 (セロトニン、ノルアドレナリン) を発現しており、メルケル細胞とシナプス構造を構成する神経終末に神経伝達物質を放出することにより、末梢部での触覚情報の伝達を行う事が報告されている (Chang et al., PNAS. 2016)。

(3) 近年では、組織学的・生理学的に正常状態のメルケル細胞の機能が明らかとなってきた。一方で、炎症時などの異常感覚におけるメルケル細胞の役割に関して未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、メルケル複合体を構成する末梢神経線維特性またはメルケル細胞が発現する神経伝達物質に着目し、疼痛や痒みの誘発におけるメルケル細胞の可能性について探索する。

3. 研究の方法

(1) 雄性 Sprague-Dawley ラットを用いた。実験に関する倫理的問題については兵庫医療大学動物実験委員会の承諾を得て、実験を行った。また、米国 NIH による実験動物の取り扱いに関するガイドンスに基づき、使用動物の数とその苦痛が最小になるように努力した。

(2) 病態モデルとして、Complete Freund's adjuvant (CFA) を足底に投与することによって、炎症性疼痛を誘発した。解析には投与 0, 1, 3, 7 日目の組織を用いた。

(3) 灌流固定後に、無毛部と有毛部の皮膚、Whisker pad を取り出したのち、免疫組織化学二重標識法を用いてメルケル細胞とカップリングする各種神経線維 (Peripherin・CGRP・Substance P・Neurofilament H・Tyrosine hydroxylase・PGP9.5・ChaT) の同定を行った。使用した抗体情報を以下に示す。

抗体	販売社
Anti-Peripherin	Abcam
Anti-CGRP	Abcam
Anti-Substance P	Oncogene Science
Anti-NFH	Sysy
Anti-TH	Abcam
Anti-PGP9.5	Abcam
Anti-ChaT	Abcam
Anti-K8	DSHB

(4) キナクリンを用いた生体におけるメルケル細胞のラベリングを行い、Whisker pad の毛包内に局在するメルケル細胞を抽出し、PCR 法によってメルケル細胞での各種遺伝子発現の解析を行った。解析した遺伝子として、Chat やアセチルコリン受容体 (M1-M5) mRNA の検討を行った。

4. 研究成果

2 年間にわたる研究 (研究活動スタート支援) により、研究の立ち上げに加え以下の成果を得た。

(1) Whiskerpad の毛包内の神経線維について、各種神経マーカーを用いて、メルケル細胞とカップリングする神経終末の機能的な分類を組織学的に検討した。皮膚を支配するメルケル細胞は、すべて NFH を発現する有髄神経線維が特異的にメルケル複合体を構成していた。一方で、毛包内のメルケル細胞は NFH と Peripherin の両マーカー陽性神経線維が特異的に接触しており、毛包部では A 線維がメルケル細胞と複合体を構成する可能性が明らかとなった (図 1)。

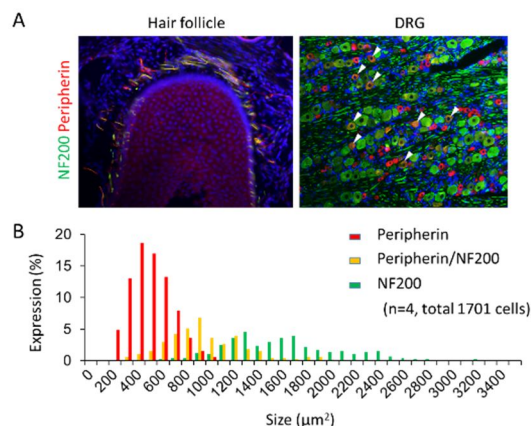


図 1. 毛包を支配する神経線維の機能的分類

(2)メルケル細胞が発現する神経伝達物質や受容体などを検出するために、キナクリンを用いたメルケル細胞の抽出法の開発を行った。メルケル細胞は毛包部の遠位側のみには局在する事から、顕微鏡下でメルケル発現部位のみを抽出したサンプルをもとにcDNAの作成を行い、PCRを行った(図2)。メルケル発現部位(MR)では非メルケル発現部位(nMR)に比較してメルケル細胞のマーカー遺伝子であるK8の発現が認められる。

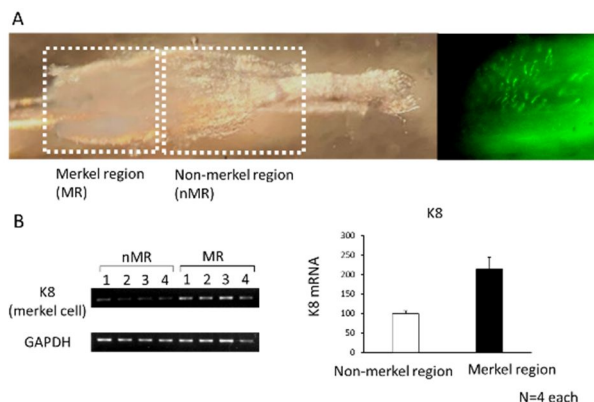


図2 メルケル細胞のRT-PCR法

(3)アセチルコリンは中枢では神経伝達物質として機能するが、皮下に投与した場合痒みを誘発することが知られている。(2)で抽出したcDNAを用いて、アセチルコリンの発現の解析を行った。メルケル細胞発現部位は非発現部位に比べてChaT mRNAの発現が有意に高いことが明らかとなった(図3)。このことは、メルケル細胞が放出するアセチルコリンも皮膚で痒みを誘発する可能性を示唆する。

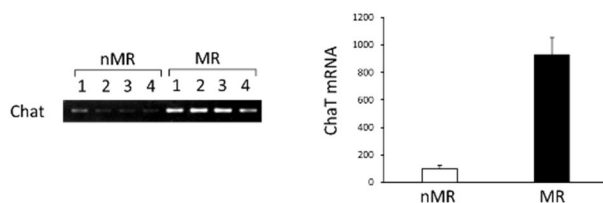


図3 メルケル細胞におけるアセチルコリンの発現

(4)CFAモデルにおける皮膚において、炎症後に無髄C線維が伸長する事を確認した。現在、メルケル細胞由来のアセチルコリンを介した痒みの発症と神経伸長の関連性の解明まで至っていないため、更なる検討が必要である。

<引用文献>

- ・ Ikeda R, Cha M, Ling J, Jia Z, Coyle D, Gu JG. Cell. 2014 Apr 24;157(3):664-75.
- ・ Chang W, Kanda H, Ikeda R, Ling J, DeBerry JJ, Gu JG. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Sep 13;113(37):E5491-500.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kanda Hiroshato, Tonomura Sotatsu, Dai Yi, Gu Jianguo G.	4. 巻 2
2. 論文標題 Protocol for pressure-clamped patch-clamp recording at the node of Ranvier of rat myelinated nerves	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 100266 ~ 100266
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xpro.2020.100266	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kanda Hiroshato, Ling Jennifer, Chang Ya-Ting, Erol Ferhat, Viatchenko-Karpinski Viacheslav, Yamada Akihiro, Noguchi Koichi, Gu Jianguo G.	4. 巻 41
2. 論文標題 Kv4.3 Channel Dysfunction Contributes to Trigeminal Neuropathic Pain Manifested with Orofacial Cold Hypersensitivity in Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2091 ~ 2105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/JNEUROSCI.2036-20.2021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------